



TITLE:

Genome analysis of the planarian *Dugesia japonica*(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

An, Yang

CITATION:

An, Yang. Genome analysis of the planarian *Dugesia japonica*. 京都大学, 2015, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18831>

RIGHT:

許諾条件により本文は2016/03/23に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏名	安 洋
論文題目	Genome analysis of the planarian <i>Dugesia japonica</i> (プラナリア <i>Dugesia japonica</i> ゲノムの解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>プラナリアは高い再生能力を持つことから、古くから再生研究の対象となってきた。ナミウズムシ<i>Dugesia japonica</i> (<i>D. japonica</i>)は、極東に広く分布する普遍種であり、プラナリアの再生研究のモデル動物となっている。さらに、ナミウズムシを使った脳の再生研究から、プラナリアが脳の原型ともいえる構造と機能を持つことが明らかにされ、再生研究のみならず神経生物学分野でも重要な実験動物と注目されるようになってきた。実験手法的にも細胞生物学・分子生物学的な方法論が著しく発展したのに対し、<i>D. japonica</i>のゲノムの配列は未だ決定されていない。再生の分子機構の解明や脳の進化研究を進めていくうえで、<i>D. japonica</i>のゲノム配列の解明は、今や必要不可欠となっている。</p> <p>本研究では、次世代シーケンサーによって得られた約21.6G塩基の<i>D.japonican</i>ゲノムの断片配列情報を用いゲノムサイズやゲノム配列の複雑性を調べるため広く用いられているkmer頻度ヒストグラム解析を行った。その結果、典型的なkmerグラフとは大きく異なる結果が得られ、<i>D. japonica</i>のゲノムは非常にユニークな特性を持つゲノムであることが示唆された。そこでプラナリアのゲノムの特性を明らかにするために、<i>D. japonican</i>のゲノム断片配列をランダムに含む161,280ものフォスミドクローンからなるゲノムDNAライブラリーを作成した。このDNAライブラリーから特定の遺伝子を含むフォスミドクローンを効率的に選別するために、colony multiplex quantitative PCR-based 3-step 3-dimension and binary code (3S3DBC)法を開発し、目的の遺伝子を含む複数のフォスミドクローンを得ることに成功した。その後、得られた複数のフォスミドクローンの配列を決定して比較したところ、<i>D. japonican</i>のゲノムは非常に多くの繰り返し配列・多型を持つゲノムであることが明となった。</p> <p>そこで、それらの問題点を克服するために、ペアエンドシーケンスを含む追加のゲノム配列情報を取得し、全部で476.5G塩基にも及ぶゲノム配列情報を得た。短い断片配列からのゲノム配列復元に用いられるde Bruijn graph法は多型を多く含むゲノムには向かないため、短い断片配列から部分的なアセンブリを行った上、さらにoverlap-layout法による配列を用いてアセンブリを行う手法を適用した。その結果、1.56Gの<i>D. japonica</i>のゲノム配列を決定することに成功した。それらのデータをもとに、遺伝子アノテーションをしたところ、23,997のタンパク質コード領域を同定した。またプラナリアの全ゲノムのうち39.69%が繰り返し配列であることも判明した。</p> <p>この新規に決定した<i>D. japonican</i>ゲノム情報を用いて、別種のプラナリアである<i>S. mediterranea</i>のゲノムとの配列比較を行い二種のプラナリア間で保存された非タンパク質コード領域 (CNE) を同定した。CNEには遺伝子発現の制御に関わる保存配列があると考えられているので、まず脳形成において重要な役割を担う<i>nou-darake(ndk)</i>遺伝子に注目し、<i>ndk</i>遺伝子領域でみつかったCNEについて、ツメガエル胚を用いて転写制御活性を調べたところ、<i>ndk</i>遺伝子の第一イントロンに存在するCNEがJun/Fos型の転写因子の結合部位として機能する結果を得ることに成功した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、①新規に効率的なDNAライブラリーのスクリーニング手法である3S 3DBC法を開発した。②本手法を用いて複数のフォスミドクローンを単離して、配列決定を行い、*D. japonica*ゲノムが繰り返し配列と多型が多いゲノムであることを示した。③繰り返し配列や多型が多いゲノムの断片化配列からゲノム配列をアセンブルする新たな手法を開発してプラナリア*D. japonica*のゲノム配列の決定に成功した。④今回得られた*D. japonica*ゲノム配列を異種のプラナリアのゲノムと比較することでプラナリアの*nou-darake*遺伝子が頭部特異的に発現する調節配列の同定に成功した。

このように本研究は、新たな実験動物として注目を浴びている日本産プラナリア*D. japonica*のゲノム配列の決定したことで、今後のプラナリアを使った再生研究や脳研究に大きな貢献をすることが期待できる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年1月15日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：_____